

Разработка и оптимизация видоспецифичной праймерной системы для детекции *Listeria seeligeri*

Е. В. Сульдина✉, старший преподаватель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

И. С. Раксина, кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

А. А. Нафеев, доктор медицинских наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432000 г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1

✉e.suldina2006@yandex.ru

Резюме. В работе представлены результаты исследований по разработке и оптимизации видоспецифичной праймерной системы для молекулярно-генетической идентификации *Listeria seeligeri* - непатогенного представителя рода *Listeria*, часто выявляемого в пищевых продуктах. Актуальность разработки обусловлена тем, что большинство коммерческих диагностических систем ориентированы исключительно на детекцию патогенного *L. monocytogenes*, что может приводить к ложноположительным результатам при наличии филогенетически близких, но безвредных видов. Для повышения точности микробиологического контроля была создана оригинальная тест-система на основе метода ПЦР в режиме реального времени. В качестве уникальной мишени выбран ген LSE_RS03515, кодирующий белок с LapB-повторами, присутствующий только у *L. seeligeri*. Дизайн 2 пар праймеров (LsF1 LsR1 и LsF2 LsR2) выполнен с использованием программного инструмента Primer-BLAST (NCBI). Экспериментально подтверждена 100 % специфичность разработанных систем при тестировании на ДНК семи видов листерий. Оптимизированы ключевые параметры реакции: установлена оптимальная температура отжига праймеров (57 °C) и концентрация MgCl₂ (1,5 мкл) на пробу. Чувствительность метода – 10² КОЕ/мл, что обеспечивает надёжное обнаружение даже при низкой контаминации образца. Разработанная тест-система позволяет быстро и точно дифференцировать *Listeria seeligeri* от других представителей рода, включая патогенные виды. Это особенно важно для пищевой микробиологии, эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики, где требуется исключение ложных срабатываний и повышение достоверности результатов. Полученные данные открывают возможности для расширения спектра диагностических инструментов, направленных на комплексный контроль микробной безопасности пищевой продукции.

Ключевые слова: *Listeria seeligeri*, *Listeria*, листерии, ПЦР, ПЦР-РВ, ДНК.

Для цитирования: Сульдина Е. В., Раксина И. С., Нафеев А. А. Разработка и оптимизация видоспецифичной праймерной системы для детекции *Listeria seeligeri* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2025. № 4 (72). С. 140-145. doi:10.18286/1816-4501-2025-4-140-145

Development and optimization of a species-specific primer system for detecting *Listeria seeligeri*

E. V. Suldina✉, I.S. Raksina, A.A. Nafeev

FSBEI HE Ulyanovsk State Agricultural University,

432000 Ulyanovsk, Novy Venets Boulevard, 1

✉e.suldina2006@yandex.ru

Abstract. The work presents the results of research on the development and optimization of a species-specific primer system for molecular genetic identification of *Listeria seeligeri* — a non-pathogenic representative of the genus *Listeria*, frequently detected in food products. The relevance of the development is due to the fact that most commercial diagnostic systems are focused exclusively on the detection of pathogenic *L. monocytogenes*, which may lead to false-positive results in the presence of phylogenetically close but harmless species. To improve the accuracy of microbiological control, an original test system was created based on the real-time PCR method. The gene LSE_RS03515, encoding a protein with LapB repeats and present only in *L. seeligeri*, was selected as a unique target. The design of 2 primer pairs (LsF1 LsR1 and LsF2 LsR2) was performed using the Primer-BLAST software tool (NCBI). The 100 % specificity of the developed systems was experimentally confirmed when testing on DNA from seven *Listeria* species. Key reaction parameters were optimized: the optimal primer annealing temperature was established at 57 °C; the concentration of MgCl₂ was optimized at 1,5 µL per sample. The sensitivity of the method is 10² CFU/mL, which ensures reliable detection even with low sample contamination. The developed test system allows for rapid and accurate differentiation of *Listeria seeligeri* from other representatives of the genus, including pathogenic species. This is especially important for food microbiology, epidemiological surveillance, and laboratory diagnostics, where the exclusion of false positives and an increase in result reliability are required. The obtained data open up opportunities for expanding the range of diagnostic tools aimed at comprehensive control of microbial safety of food products.

Keywords: *Listeria seeligeri*, *Listeria*, *listeria*, PCR, PCR RT, DNA.

For citation: Suldina E. V., Raksina I. S., Nafeev A. A. Development and optimization of a species-specific primer system for detecting *Listeria seeligeri* / E.V. Suldina, I.S. Raksina, A.A. Nafeev// Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2025.4 (72): 140-145 doi:10.18286/1816-4501-2025-4-140-145

Введение

Во всем мире из-за изменения образа жизни, современных экономических систем, интереса к разнообразным кулинарным блюдам, далеким от наших традиций, а также из-за пандемии COVID-19 наблюдается заметный рост потребления полуфабрикатов и готовых к употреблению продуктов [1].

Современные методы производства, хранения и доставки пищевой продукции, несмотря на высокий уровень технологичности, могут способствовать активному размножению отдельных видов патогенных микроорганизмов, достигающих концентраций, представляющих серьёзную угрозу для здоровья человека. Недостаточное внимание к этим рискам нередко становится причиной не только единичных случаев пищевых инфекций, но и масштабных вспышек заболеваний, сопровождающихся значительной летальностью. Ярким примером подобной угрозы служит листериоз – тяжёлое инфекционное заболевание, вызываемое *Listeria monocytogenes*.

Листероз – заболевание пищевого происхождения, возбудителем, которого является бактерия *Listeria*, наиболее часто встречается у людей больных онкологическими заболеваниями, сахарным диабетом, ВИЧ-инфицированных, лиц пожилого возраста, беременных и новорожденных [2]. Основным возбудителем листериоза у человека традиционно считается *Listeria monocytogenes*, однако потенциальный риск заражения сохраняется и со стороны других представителей рода *Listeria* (на сегодняшний день описано 19 видов). Согласно исследованиям зарубежных учёных, в пищевых продуктах наряду с *L. monocytogenes* наиболее часто выявляются такие виды, как *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. grayii* и *L. welshimeri*, что подчеркивает необходимость комплексного микробиологического контроля при оценке безопасности пищевого сырья и готовой продукции [3-7].

Заболеваемость листериозом растёт с каждым годом и требует более точных методов диагностики и профилактики, направленной на предупреждение возникновения и распространения данного инфекционного заболевания.

Идентификация видов *Listeria* в продуктах питания важна для мониторинга патогенных штаммов и облегчает реализацию мер контроля [8]. Поэтому важно уметь не только своевременно выделить культуру листерий, но и идентифицировать ее до вида.

Следует подчеркнуть, что большинство коммерчески доступных диагностических тест-систем на сегодняшний день нацелены исключительно на выявление одного вида – *Listeria monocytogenes*. В то же время растёт понимание необходимости разработки и внедрения методик, способных на ранних этапах дифференцировать и других представителей рода

Listeria, включая непатогенные виды, такие как *L. seeligeri* [9]. Это особенно актуально в условиях, когда точная идентификация всех видов *Listeria* имеет значение для эпидемиологического мониторинга, оценки микробиологической безопасности пищевой продукции и исключения ложноположительных результатов. Таким образом, для специалистов в области лабораторной диагностики листериоза крайне важно располагать надёжным, быстрым и дифференцирующим методом, позволяющим не только обнаруживать *L. monocytogenes*, но и надёжно отличать его от филогенетически близких видов, в том числе *L. seeligeri* [10].

Цель исследований – разработка системы праймеров для идентификации бактерий вида *Listeria seeligeri* методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени и оптимизация их работы.

Материалы и методы

В работе использовали геномную ДНК семи видов бактерий рода *Listeria* (*L. monocytogenes*, *L. grayi*, *L. welshimeri*, *L. murrayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*). Выделение ДНК проводили с применением набора D-Cells (ООО «Биолабмикс», Новосибирск).

Подбор и дизайн праймеров для *Listeria seeligeri* осуществляли в Primer-BLAST (NCBI).

Для постановки ПЦР применяли реакционную смесь БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue(2x) (Биолабмикс, г. Новосибирск) и стандартный набор лабораторного оборудования и расходных материалов. Амплификацию осуществляли на приборе DTPPrime (ДНК-Технология, Москва).

Анализ данных выполнен в Microsoft Excel (Microsoft Office 2017).

Результаты

Для разработки праймерной системы для молекулярно-генетической идентификации *Listeria seeligeri* были проанализированы геномы аннотированные в NCBI. В качестве гена интереса был выбран не тривиальный участок LSE_RS03515 кодирующий белок, содержащий повторы LapB [*Listeria seeligeri* серотип 1/2b str. SLCC3954] (рис. 1)

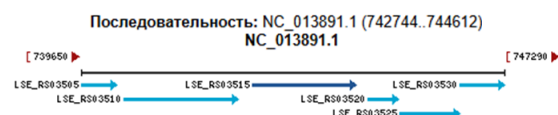


Рис. 1. Геномный контекст последовательности

По данным *in-silico* выбранный геномный локус является уникальным для данного вида и отсутствует у других представителей рода *Listeria*.

Дизайн олигонуклеотидов осуществляли с помощью инструмента Primer-BLAST (NCBI;

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). В качестве праймеров были выбраны 2 пары:

LsF1 CAAGCAACTGCAAGCGGAAA

LsR1 GAAGACGCCGGTTGCTGAGT

Аmplифицируемый фрагмент 237 пар оснований.

LsF2 TTGAAGACGCCGGTTGCTGA

LsR2 GTCAAGCAACTGCAAGCGGAAA

Аmplифицируемый фрагмент 241 пара оснований.

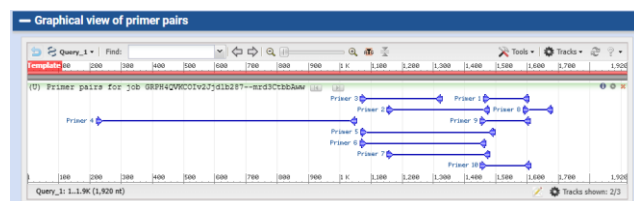


Рис.2. Подбор праймеров

Синтез праймеров осуществлен компанией «ДНК-Синтез» (Москва).

Оптимальную температуру отжига праймеров подбирали экспериментальным путем. В качестве матрицы использовали ДНК выделенную из коллекционного штамма *Listeria seeligeri*.

При написании программы амплификации пользовались рекомендациями производителя реакционной смеси: 1. Предварительная денатурация 95 °C – 300 сек. 2. 35 циклов: денатурация 95°C – 10 сек, отжиг (55...61 °C, с шагом в 2°C) – 15 сек, элонгация 68°C – 15 сек. Температура отжига 57 °C обеспечивает наиболее стабильную амплификацию (рис. 3-6). Эту температуру отжига применяли в дальнейшем для следующих этапов оптимизации работы праймерной системы.

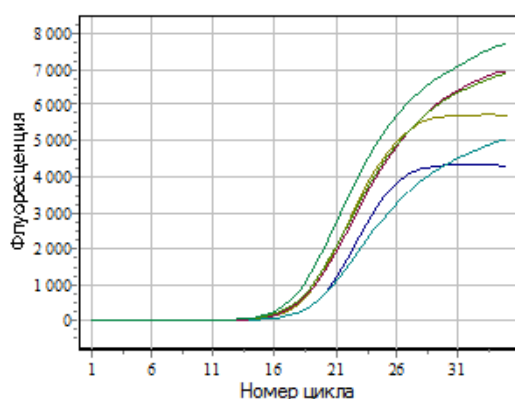


Рис. 3. Результаты амплификации *L. seeligeri* при температуре отжига праймеров 55°C

Подбор оптимальной концентрации $MgCl_2$ проводили путем изменения расчетов непосредственно при приготовлении ПЦР-продукта. Нами были протестированы концентрации в границах от 0 до 2,5 мкл $MgCl_2$ на 1 пробу. Оптимальной посчитали концентрацию в 1,5 мкл $MgCl_2$, при которой наблюдали максимальный флуоресцентный сигнал (табл. 1, рис. 7).

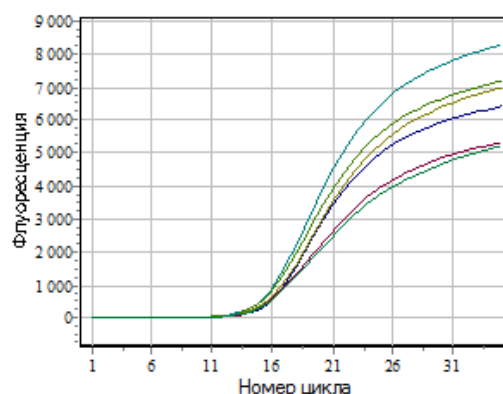


Рис. 4. Результаты амплификации *L. seeligeri* при температуре отжига праймеров 57°C

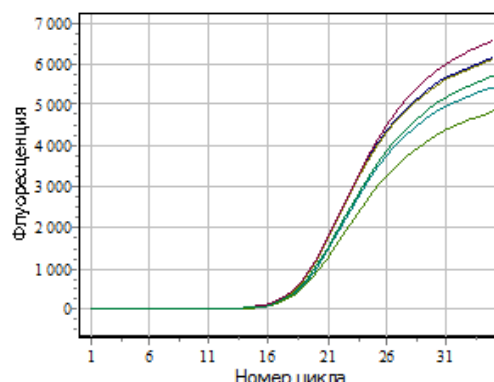


Рис. 5. Результаты амплификации *L. seeligeri* при температуре отжига праймеров 59°C

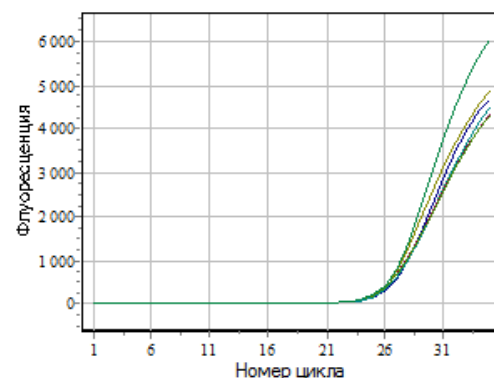


Рис. 6. Результаты амплификации *L. seeligeri* при температуре отжига праймеров 61°C

Таблица 1. Результаты амплификации при подборе оптимальной концентрации $MgCl_2$

Номер лунки	Идентификатор пробирки	Cp, Fam	Результат
B6	LsF1 0	24,7	+
B9	LsF2 0	23,1	+
C5	LsF1 0,5	24,2	+
C10	LsF2 0,5	27,7	+
D5	LsF1 1	20,3	+
E6	LsF2 1	18,6	+
E7	LsF1 1,5	14,2	+
E10	LsF2 1,5	13,7	+
F4	LsF1 2	22,4	+
F7	LsF2 2	21,2	+
F8	LsF1 2,5	19,2	+
F9	LsF2 2,5	21,7	+

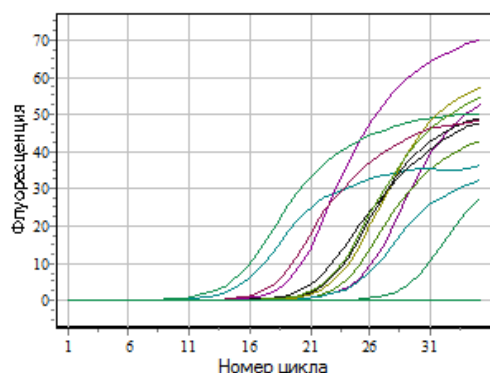


Рис. 7. Результаты амплификации при подборе оптимальной концентрации $MgCl_2$

Таблица 2. Изучение специфичности разработанной системы праймеров для детекции *L. seeligeri* методом ПЦР-РВ

Номер лунки	Идентификатор пробирки	Cp, Fam	Результат
A4	LsF1 <i>L. seeligeri</i>	19,4	+
A5	LsF1 <i>L. monocytogenes</i>		-
A6	LsF1 <i>L. grayi</i>		-
A7	LsF1 <i>L. welshimeri</i>		-
A8	LsF1 <i>L. murrayi</i>		-
A9	LsF1 <i>L. innocua</i>		-
B3	LsF1 <i>L. ivanovii</i>		-
B4	LsF2 <i>L. ivanovii</i>		-
B5	LsF2 <i>L. innocua</i>		-
B6	LsF2 <i>L. murrayi</i>		-
B7	LsF2 <i>L. welshimeri</i>		-
B8	LsF2 <i>L. grayi</i>		-
E8	LsF2 <i>L. monocytogenes</i>		-
A3	LsF2 <i>L. seeligeri</i>	19,2	+

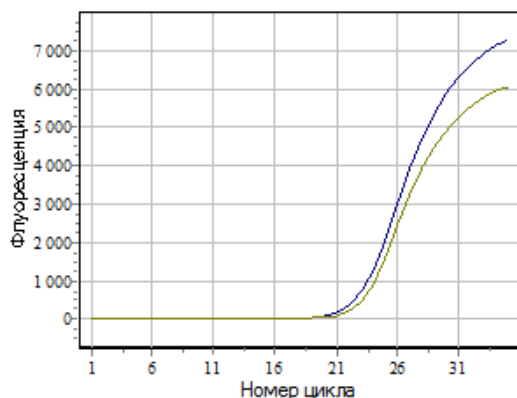


Рис. 8. Изучение специфичности разработанной праймерной системы для идентификации *L. seeligeri*

Специфичность разработанной праймерной системы проверяли с использованием ДНК дополнительных штаммов бактерий рода *Listeria*: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. murrayi*. Амплификация наблюдалась только при использовании ДНК *L. seeligeri*, что подтверждает 100 % специфичность подобранных праймеров (табл. 2, рис. 8).

Чувствительность тест-системы оценивали на серии 10-кратных разведений суточной культуры *L. seeligeri* соответствующую 10^1 – 10^7 КОЕ/мл. Предел обнаружения составил 10^2 КОЕ/мл (100 жизнеспособных клеток в 1 мл).

Обсуждение

Многочисленные вспышки листериоза в ряде стран мира и его широкое распространение в окружающей среде обуславливает необходимость усовершенствования лабораторной диагностики инфекции, то есть улучшение качества существующих и создание новых методов детекции.

В современной лабораторной диагностике листериоза широко используются молекулярно-генетические методы, которые значительно ускоряют процесс идентификации листерии, по сравнению с длительным бактериологическим исследованием. Особое место среди этих методов занимает полимеразная цепная реакция (ПЦР) [11].

Важно отметить, что выпускаемые на сегодняшний день коммерческие тест системы определяют только один вид листерий – *L. monocytogenes*. В своих исследованиях Нечаев А. Ю. с коллегами для выявления листерий в мясопродуктах молекулярно - генетическим методом использовали набор для ПЦР в реальном времени iQ Check™ *Listeria monocytogenes* (BioRad, Германия) [12]. Предложен и запатентован набор ПЦР для выявления ДНК патогенных микроорганизмов вида *Listeria monocytogenes* в пробах биоматериала, в пробах кормов, в объектах внешней среды.

На протяжении многих лет, иностранные коллеги для дифференциальной диагностики и выявления *L. seeligeri* в продуктах питания применяют ПЦР [11, 13]. Авторы [14] представили разработку и оценку 5'-экзонуклеазного анализа в реальном времени для быстрой идентификации *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. monocytogenes* и *L. ivanovii*, *L. grayi*, *L. innocua*. Разработанный анализ оказался специфичным, быстрым и воспроизводимым, поэтому его можно использовать в загруженных специализированных лабораториях.

D. Liu с коллегами после сравнительного анализа геномной ДНК шести видов *Listeria* методом точечной гибридизации выделили один специфичный для *L. seeligeri* клон (Ise24-315), содержащий вставку длиной 1538 пар оснований. Используя праймеры (Ise24-315F и Ise24-315R), полученные из этого клона, установили, что специфический продукт ПЦР длиной 375 п.о. образуется только из геномной ДНК штаммов *L. seeligeri*. Таким образом, ПЦР с использованием праймеров Ise24-315F и Ise24-315R обеспечивает быстрый, чувствительный и специфичный метод для отличия *L. seeligeri* от других листерий и распространённых бактерий [15-16].

Заключение

В ходе проведенных исследований оптимизирована работа двух оригинальных систем праймеров для детекции *L. seeligeri* методом ПЦР. Специфичность подобранных систем праймеров составила 100%. Чувствительность реакции 10^2 клеток/мл. Ориентируясь на результаты проведенных исследований в качестве основной пары праймеров выбрана пара LsF1 F1 CAAGCAACTGCAAGCGGAAA; R1

GAAGACGCCGGTTGCTGAGT, ограничивающая участок в 237 п.о. гена, кодирующего белок, содержащий повторы LapB для *Listeria seeligeri*.

Литература

1. Manyi-Loh C. E., Lues R. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis: The Global Enigma // Foods. 2025. Vol. 14. P. 1266. doi:10.3390/foods14071266
2. Листерииоз / В. И. Лучшев, В. В. Никифоров, С. В. Бурова и др. // Лечебное дело. 2005. №. 2. С. 71–76.
3. Geographical and meteorological factors associated with isolation of *Listeria* species in New York State produce production and natural environments / T. K. Chapin, K. K. Nightingale, R. W. Worobo, et al. // J Food Prot. 2014 Nov; 77(11):1919-28. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-132. 1
4. Hofer E., Ribeiro R., Feitosa D. P. Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997 // Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000 Sep-Oct. Vol. 95 (5). P.615-20.
5. Reservoirs of *Listeria* species in three environmental ecosystems // K. Linke, I. Rückerl, K. Brugger, et al. // Appl Environ Microbiol. 2014. Vol. 80. (18). P. 5583-92. doi: 10.1128/AEM.01018-14
6. Prevalence and characterization of foodborne pathogens from Australian dairy farm environments / C. M. McAuley, K. McMillan, S. C. Moore, et al. // J Dairy Sci. 2014. Vol. 97 (12). P. 7402-12. doi: 10.3168/jds.2014-8735
7. Comparison of the prevalences and diversities of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* in an urban and a rural agricultural watershed / E. C. Stea, L. M. Purdue, R. C. Jamieson, et al. // Appl Environ Microbiol. 2015. Vol. 81(11). P. 3812-22. doi: 10.1128/AEM.00416-15
8. Identification of six *Listeria* species by real-time PCR assay E. Hage, O. Mpamugo, C. Ohai, et al. // Letters in Applied Microbiology. 2014. Vol. 58. No. 6. P. 535-540, doi: 10.1111/lam.12223
9. Тартаковский И. С., Малеев В. В., Ермолаева С. А. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика. М.: Медицина для всех. 2002. 200 с.
10. Стародумова С. М., Зайцева Е.А. Способ быстрой идентификации бактерий рода *Listeria* и патогенного вида *Listeria monocytogenes* с помощью мультиплексной ПЦР // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. № 1. С. 95-97.
11. The role of probiotics in improving food safety; detoxification of heavy metals and chemicals / F. Ansari, C-C. Lee, A. Rashidimehr, et al. //Toxin Reviews. 2024. Vol. 43. No 1. P 63-91. doi: 10.1080/15569543.2023.2283768
12. Köppel R., Schade J., Peier M. Specific detection of the most prevalent five *Listeria* strains and unspecific detection of 15 *Listeria* using multiplex real-time PCR // European Food Research and Technology. 2021. Vol. 247. No. 5. P. 1167-1175.

13 Молекулярно генетические особенности и эпидемиологическая значимость штаммов *Listeria monocytogenes*, выделенных от беременных женщин и из абортного материала в дальневосточном регионе России Е. А. Зайцева, Н. М. Пуховская, Ю. С. Мусатов и др. // Клиническая микробиология антимикробная химиотерапия. 2007. Т. 9. № 1. С. 81-89.

14. Discovery of natural atypical nonhemolytic *Listeria seeligeri* isolates / D. Volokhov, J. George, C. Anderson, et al. // Appl Environ Microbiol 72. No 4. doi: 10.1128/AEM.72.4.2439-2448.2006

15. Identification of six *Listeria* species by real-time PCR assay / E. Hage, E. Hage, O. Mpamugo, et al. // Microbiology. 2014. Vol. 58. No. 6. P. 535-540. doi:10.1111/lam.12223

16. Species-specific PCR determination of *Listeria seeligeri* / D. Liu, M. L. Lawrence, A. J. Ainsworth, et al. // Research in Microbiology. 2004. Vol. 155. No. 9. P. 741-74. doi:10.1016/j.resmic.2004.05.013

References

1. Manyi-Loh C. E., Lues R. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis: The Global Enigma // Foods. 2025. Vol. 14. P. 1266. doi:10.3390/foods14071266
2. Listeriosis / V. I. Luchchev, V. V. Nikiforov, S. V. Burova et al. // General Medicine. 2005. No. 2. P. 71-76.
3. Geographical and meteorological factors associated with isolation of *Listeria* species in New York State produce production and natural environments / T. K. Chapin, K. K. Nightingale, R. W. Worobo, et al. // J Food Prot. 2014 Nov; 77(11):1919-28. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-132. 1
4. Hofer E., Ribeiro R., Feitosa D.P. Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997 // Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000 Sep-Oct. Vol. 95 (5). P.615-20.
5. Reservoirs of *Listeria* species in three environmental ecosystems // K. Linke, I. Rückerl, K. Brugger, et al. // Appl Environ Microbiol. 2014. Vol. 80. (18). P. 5583-92. doi: 10.1128/AEM.01018-14
6. Prevalence and characterization of foodborne pathogens from Australian dairy farm environments / C. M. McAuley, K. McMillan, S. C. Moore, et al. // J Dairy Sci. 2014. Vol. 97(12). P. 7402-12. doi: 10.3168/jds.2014-8735
7. Comparison of the prevalences and diversities of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* in an urban and a rural agricultural watershed / E. C. Stea, L. M. Purdue, R. C. Jamieson, et al. // Appl Environ Microbiol. 2015. Vol. 81(11). P. 3812-22. doi: 10.1128/AEM.00416-15
8. Identification of six *Listeria* species by real-time PCR assay E. Hage, O. Mpamugo, C. Ohai, et al. // Letters in Applied Microbiology. 2014. Vol. 58. No. 6. P. 535-540. doi: 10.1111/lam.12223
9. Tartakovsky I. S., Maleev V. V., Ermolaeva S. A. *Listeria*: Role in Human Infectious Pathology and Laboratory Diagnostics. Moscow: Medicine for All. 2002. 200 p.
10. Starodumova S.M., Zaitseva E.A. A Method for Rapid Identification of *Listeria* Bacteria and the

Pathogenic Species *Listeria Monocytogenes* Using Multiplex PCR // Pacific Medical Journal. 2014. No. 1. P. 95-97.

11. The role of probiotics in improving food safety; detoxification of heavy metals and chemicals / F. Ansari, C-C. Lee, A. Rashidimehr, et al. //Toxin Reviews. 2024. Vol. 43. No 1. P 63-91. doi: 10.1080/15569543.2023.2283768

12. Köppel R., Schade J., Peier M. Specific detection of the most prevalent five *Listeria* strains and unspecific detection of 15 *Listeria* using multiplex real-time PCR // European Food Research and Technology. 2021. Vol. 247. No. 5. P. 1167-1175.

13. Molecular genetic characteristics and epidemiological significance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from pregnant women and from abortion material in the Far Eastern region of Russia E. A. Zaitseva, N. M. Pukhovskaya, Yu. S. Musatov et al. // Clinical microbiology antimicrobial chemotherapy. 2007. Vol. 9. No. 1. P. 81-89.

14. Discovery of natural atypical nonhemolytic *Listeria seeligeri* isolates / D. Volokhov, J. George, C. Anderson, et al. // Appl Environ Microbiol 72. No 4. doi: 10.1128/AEM.72.4.2439-2448.2006

15. Identification of six *Listeria* species by real-time PCR assay / E. Hage, E. Hage, O. Mpamugo, et al. // Microbiology. 2014. Vol. 58. No. 6. P. 535-540. doi:10.1111/lam.12223

16. Species-specific PCR determination of *Listeria seeligeri* / D. Liu, M. L. Lawrence, A. J. Ainsworth, et al. // Research in Microbiology. 2004. Vol. 155. No. 9. P. 741-74. doi:10.1016/j.resmic.2004.05.013